

Analisis Fitokimia Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Tumbuhan Mempening (*Lithocarpus bancanus* (Scheff.) Rehd) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Retno Puji Lestari^{1*}, Rudi Hendra Sy¹, Hilwan Y. Teruna^{1,2}

1) Program Studi Pasca Sarjana Kimia, Mahasiswa Program
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Riau, Pekanbaru, 28293. Riau, Indonesia

2) Penulis Korespondensi. Email : hyteruna@lecturer.unri.ac.id

Abstrak

Mempening (*Lithocarpus bancanus* (Scheff.) Rehd) merupakan jenis spesies tumbuhan dari famili Fagaceae yang ditemukan tumbuh di wilayah suku Talang Mamak di Kecamatan Kelayang, Kabupaten Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari ekstrak daun tumbuhan *L. bancanus* terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan analisis fitokimianya. Hasil uji aktivitas toksisitas dengan metode BSLT dari daun tumbuhan *L. bancanus* (Scheff.) Rehd terhadap masing-masing ekstrak *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, dan etanol menunjukkan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 3,15 ppm; 41163,26 ppm; 5817,09 ppm; 817, 27 ppm; 9019,70 ppm. Analisis fitokimia dari daun tumbuhan *L. bancanus* (Scheff.) Rehd menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin.

Kata kunci : *Lithocarpus bancanus* (Scheff.) Rehd, Fagaceae, Toxicity, BSLT

Abstract

Mempening (*Lithocarpus bancanus* (Scheff.) Rehd) is a species belongs to the family Fagaceae which is found growing around the Talang Mamak tribal region in Kelayang District, Indragiri Hulu Regency, Riau Province. The purpose of this study was to determine the toxicity of leaf extract of *L. bancanus* (Scheff.) Rehd against *Artemia salina* Leach larvae using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method and its phytochemical analysis. The results of the toxicity was determined against *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and ethanol extract and they showed LC₅₀ values of 3.15 ppm; 41163.26 ppm; 5817.09 ppm; 817, 27 ppm; 9019.70 ppm. Phytochemical analysis of the leaves of *L. bancanus* (Scheff.) Rehd plant showed a class of flavonoids, terpenoids, phenolics and saponins.

Keywords : *Lithocarpus bancanus* (Scheff.) Rehd, Fagaceae, Toxicity, BSLT

PENDAHULUAN

Lithocarpus termasuk ke dalam suku Fagaceae yang terdiri atas 300 jenis dan tersebar dari Utara sampai wilayah Timur India (Nepal, Bhutan, dan Assam), Burma, Thailand, Indo-Cina, Korea, Jepang, Formosa, Hainan, dan Malaysia (Soepadmo E., 1970). Pada umumnya jenis-jenis tersebut tersebar hanya di suatu daerah yang terbatas dan tumbuh bersama-sama dengan *Quercus* dan *Castanopsis* di hutan alam. Jenis ini merupakan karakteristik untuk daerah pegunungan rendah sampai pertengahan dan merupakan salah satu jenis endemik yang cukup penting.

Lithocarpus di Indonesia sekitar 60 jenis dengan sebaran terbesar adalah di Sumatera kemudian disusul terbanyak di Kalimantan dan Jawa. *Lithocarpus* tumbuh di dataran rendah *everwet* sampai hutan pegunungan dengan ketinggian antara 0-3000 m dpl tetapi umumnya di bawah 300 dan 1500 m. Jenis-jenis *Lithocarpus* banyak dijumpai di ketinggian 0-500 m, di Sumatera ada 11 jenis dan semua jenis yang ditemukan mampu tumbuh pada ketinggian 0-500 m (Purwaningsih *et al.*, 2013).

Mempening (*Lithocarpus bancanus*) merupakan jenis spesies dari famili Fagaceae. Tumbuhan ini dapat tumbuh mencapai 25 m dengan diameter batang 50 cm. Tumbuhan ini dapat tumbuh di hutan sampai ketinggian 900 m. Sebagian besar terdapat di lereng bukit dan pegunungan berpasir hingga tanah liat, namun dapat juga ditemukan di hutan rawa gambut.

L. bancanus ditemukan tumbuh disekitaran wilayah suku Talang Mamak di Kabupaten Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Menurut studi literatur terhadap spesies yang berbeda dari tumbuhan ini memiliki berbagai macam aktivitas. Daun dari tumbuhan *Lithocarpus polystachus* Rehd memiliki aktivitas antidiabetes (Dong *et al.*, 2012), aktivitas antioksidan (Sun *et al.*, 2015) dan antikanker (Lin *et al.*, 2014), *Lithocarpus celebicus* memiliki aktivitas antimikroba (Khan *et al.*, 2001).

Fraksi flavonoid dari tumbuhan *Lithocarpus polystachus* Rehd (*Sweet Tea*, ST), aktivitas antihipertensif pada fraksi flavonoid ST (ST-F). Sehingga ST-F diindikasikan berpotensi sebagai obat alami atau makanan yang berfungsi sebagai pencegahan hipertensi (Hou, Xu, Jiang, Chen, & Wang, 2012). Sedangkan ekstrak air dari daun tumbuhan *Lithocarpus polystachyus* Rehd (*Lithocarpus polystachyus leaf aqueous extract* / LPAE) memiliki efek penghambatan pertumbuhan kanker payudara yang diuji secara *in vitro* dan *in vivo*.

Untuk itu perlu dilakukan eksplorasi untuk mengetahui kandungan dan bioaktivitas metabolit sekunder dari daun tumbuhan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari ekstrak tumbuhan *L. bancanus* terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan analisis fitokimianya.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lumpang dan alu, timbangan analitik, kertas saring, aluminium foil, peralatan destilasi, *rotary evaporator*, *box steril* dan alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan *n*-heksana (C_6H_{14}), diklorometana (CH_2Cl_2), etil asetat ($C_4H_8O_2$), metanol (CH_3OH), dan etanol (C_2H_5OH), larva udang *Artemia salina*.

Penyediaan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tumbuhan *L. bancanus* (Scheff.) Rehd yang diambil dari Desa Kelayang Kecamatan Kelayang Kabupaten Indragiri Hulu. Daun dari *L. bancanus* dijemur di bawah sinar matahari dan dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dan ditimbang beberapa kali sampai beratnya konstan.

Ekstraksi

Sampel kering daun *L. bancanus* yang sudah dihaluskan dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, dan etanol hingga diperoleh maserat. Masing-masing maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, dan etanol.

Uji Fitokimia

Uji pendahuluan kandungan metabolit sekunder dilakukan terhadap daun *L. bancanus* (Scheff.) Rehd. Sampel sebanyak 5 gram dipotong sampai halus, lalu diekstraksi dengan etanol, pada ekstrak

kental ini ditambahkan masing-masing 5 mL air suling dan kloroform lalu dikocok kuat dan dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Lapisan kloroform digunakan untuk uji senyawa terpenoid, dan steroid. Sedangkan untuk uji alkaloid digunakan metoda Culvenor-Fitzgerald, sampel dari daun tanaman *L. bancanus* sebanyak 5 gram dalam bentuk serbuk ditambahkan 10 mL larutan kloroform beramoniak 0,05 M, diaduk kemudian disaring. Asam sulfat 2 N sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok selama 2 menit, biarkan hingga terbentuk dua lapisan dan terjadi pemisahan. Lapisan asam (atas) diambil dan ditambahkan 1–2 tetes pereaksi Mayer atau pereaksi Dragendorff, jika terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer atau warna jingga dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif untuk alkaloid.

Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksistas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (Carballo *et al.*, 2002). Vial yang digunakan untuk uji toksistas dikalibrasi dengan standar volume 5 mL. Ekstrak total *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, dan etanol sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 2 mL maka didapatkan larutan induk ekstrak uji dengan konsentrasi 10.000 µg/mL, kemudian larutan induk dengan konsentrasi 10.000 µg/mL tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial uji hingga diperoleh konsentrasi 1.000 µg/mL setelah penambahan air laut hingga 5 mL, pembuatan konsentrasi 100 µg/mL dengan cara pengenceran larutan induk 10.000 µg/mL sebanyak 0,5 mL ditambahkan metanol hingga 5 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 1000 µg/mL kemudian dipipet 0,5 mL larutan ekstrak uji tersebut ke dalam vial uji hingga nantinya didapat konsentrasi 100 µg/mL setelah penambahan air laut hingga 5 mL, dan untuk konsentrasi 10 µg/mL dibuat dari larutan uji 100 µg/mL dengan cara yang sama. Metanol dalam masing-masing vial uji dibiarkan menguap. Senyawa uji dilarutkan kembali dengan 50 µL DMSO, selanjutnya air laut ditambahkan hampir mencapai batas kalibrasi. Larva udang dimasukkan sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing vial yang telah berisi air laut. Air laut ditambahkan lagi beberapa tetes sampai batas kalibrasi, kemudian kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Data yang diperoleh dihitung LC₅₀ dengan metode analisis probit dengan perumusan regresi sebagai berikut:

$$y = a + bx$$

Dimana *a* adalah konstanta, *b* adalah koefisien regresi, *x* adalah konsentrasi, dan *y* adalah 5 (kematian 50 % maka nilai probitnya 5).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian skrining fitokimia dari masing-masing ekstrak pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tumbuhan *L. bancanus* mengandung golongan senyawa flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak *L. bancanus* (Scheff.) Rehd

No	Senyawa	Reagen	Hasil	Seharusnya	Keterangan
1.	Terpenoid/Steroid	Lieberman-Burchad	Larutan Biru kehijauan	War Biru kehijauan	+
2.	Flavonoid	Sianidin test	Larutan Merah	Larutan Merah	+
3.	Alkaloid	Meyer, Dragendroft	Larutan bening, Larutan Kuning	↓ Putih, larutan kemerahan)	-
4	Fenolik	FeCl ₃ 1%	Larutan Biru Ungu	Larutan Biru/Ungu	+
5.	Saponin	H ₂ O	Busa	Busa	+

Keterangan : (+) : terdeteksi, (-) : tidak terdeteksi

Uji toksistas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan untuk mengetahui aktivitas toksik dari masing-masing ekstrak daun tumbuhan *L. bancanus*. LC₅₀ adalah nilai yang menunjukkan kemampuan konsentrasi yang dapat mematikan 50% populasi larva udang. Nilai LC₅₀ ini didapatkan

dengan cara memasukkan nilai $y = 5$ ke dalam persamaan regresinya sehingga didapatkan nilai LC_{50} masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas toksik jika mempunyai nilai $LC_{50} < 1000$ ppm sehingga hanya ekstrak *n*-heksana dan metanol saja yang memiliki potensi terhadap aktivitas ini. Sedangkan ekstrak diklorometana, etil asetat, dan etanol kurang memiliki potensi toksisitas.

Berdasarkan hasil analisa yang telah dilakukan untuk aktivitas toksisitas ekstrak *n*-heksana dan metanol memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dengan masing-masing nilainya 3,15 ppm dan 817,27 ppm. Nilai ini dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan nilai LC_{50} pada ekstrak *n*-heksana menunjukkan potensi aktivitas toksisitas yang sangat baik yang kemudian disusul dengan ekstrak metanol terhadap hewan uji larva *A. salina* Leach karena nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm. Sedangkan untuk ketiga ekstrak lainnya diklorometana, etil asetat, dan etanol kurang memiliki potensi aktivitas toksisitas yang baik terhadap larva tersebut. Mekanisme kematian larva ini diduga karena potensi kandungan senyawa yang terdapat di dalam masing-masing ekstrak dari daun *L. Bancanus*.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas Toksisitas dari ekstrak daun tumbuhan mempenig (*L. bancanus* (Scheff.) Rehd).

Ekstrak	LC_{50} (ppm)	Keterangan
<i>n</i> -Heksana	3,15	Toksik
Diklorometana	>1000	Tidak toksik
Etil asetat	>1000	Tidak toksik
Metanol	817,27	Toksik
Etanol	>1000	Tidak toksik

Dengan demikian ekstrak *n*-heksana dan metanol dapat digunakan sebagai dasar dalam proses isolasi untuk mendapatkan senyawa murni yang memiliki potensi sebagai kandidat dalam bioaktivitas lainnya.

KESIMPULAN

Ekstrak *n*-heksana dari daun tumbuhan *L.bancanus* memiliki toksisitas tertinggi yang kemudian disusul dengan ekstrak metanol terhadap uji larva *A. salina* dengan masing-masing nilai LC_{50} sebesar 3,15 ppm dan 817,27 ppm sedangkan ekstrak diklorometana, etil asetat, dan etanol tidak bersifat toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Carballo, J. L., Hernández-inda, Z. L., Pérez, P., & García-grávalos, M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products, 5, 1–5.
- Dong, H., Li, M., Zhu, F., Liu, F., & Huang, J. (2012). Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*, 130(2), 261–266.
- Hou, S., Xu, S., Jiang, D., Chen, S., & Wang, L. (2012). Effect of the flavonoid fraction of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. on spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 441–447.
- Khan, M. R. U., Kihara, M., & Omoloso, A. D. (2001). Antimicrobial activity of *Lithocarpus celebicus*, 703–705.
- Lin, C., Wang, L., Wang, H., Fang, S., Zhang, Q., Yang, L., Wang, X. (2014). *Lithocarpus Polystachyus* Rehd Leaf Aqueous Extract Inhibits Human Breast Cancer Growth In Vitro and In Vivo Inhibits Human Breast Cancer Growth In Vitro and In Vivo. *Nutrition Cancer*, 66 (4) : 613–624.
- Purwaningsih & Polosakan, R. (2013). Keanekaragaman Jenis dan Sebaran Fagaceae di Indonesia. *Ethos (Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat)*, 85–92.
- Soepadmo, E. (1970). *Florae Malesianae Praecursores XLIX*. The present paper is the outcome of work performed at the Rijks-herbarium, Leiden (L), the Netherlands, between the period of October 1966 and February 1968, with specimens received on loan from or examined at t, 8, part 1,pp. 197 - 308.

Sun, Y., Li, W., & Liu, Z. (2015). Preparative isolation, quantification and antioxidant activity of dihydrochalcones from Sweet Tea (*Lithocarpus polystachyus* Rehd.). *Journal of Chromatography B*, 1002, 372–378.

